

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.31-089.843

НА ПУТИ К СОЗДАНИЮ ЖИВОГО ДЕРМАЛЬНОГО ЭКВИВАЛЕНТА

Р. Д. Бодун, Н. В. Островский, А. Б. Шиповская, Р. К. Чернова,
И. Б. Беянина, Д. С. Моисеенко

Саратовский государственный университет,
Саратовский центр термических поражений (ММУ Городская больница № 7)

Аннотация: в работе представлены материалы по разработке биодеградируемых полимерных матриц на основе биополимера хитозана для решения задач тканевой скаффолд-инженерии, в частности для создания эквивалента кожи для лечения ран и ожогов.

Ключевые слова: ожоги, раны, биодеградируемый полимерный матрикс, хитозан, кожный эквивалент.

Термические поражения представляют серьезную медицинскую, социальную и экономическую проблему, поскольку ежегодно в мирное время термическую травму получает один человек из каждой тысячи населения земного шара, умирают около 60 тыс. человек. В настоящее время возросла частота ожогов, обусловленная интенсивным техническим перевооружением промышленности, сельского хозяйства и быта. В России ежегодно регистрируется более 800 тыс. обожженных, из которых 30–40 % – дети. Из общего числа инвалидов в России обожженные составляют до 23 %. Поиск новых эффективных методов лечения ожогов является актуальной задачей и невозможен без знания закономерностей раневого процесса.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка биодеградируемых полимерных матриц на основе биополимера хитозана для решения задач тканевой скаффолд-инженерии, в частности, для создания эквивалента кожи для лечения ран и ожогов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Культивирование аллогенных фибробластов, создание полимерных матриц на основе биополимера хитозана.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ № 06-08-00892а).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В современной комбустиологии для закрытия раневых поверхностей применяются различные полимерные материалы.

Использование перфорированных пленок из регенерируемой целлюлозы с нанесенным слоем нативного коллагена не только механически защищает рану от высыхания и инфицирования, но стимулирует процессы регенерации в ожоговой ране.

На основе линейных сополимеров н-изопротилакриламида, н-третбутилакриламида и акриламидобензофенона предложены новые термочувствительные биоматериалы, обеспечивающие адгезионную, пролиферативную и функциональ-

ную активности клеток, а также нетравматичное открепление их от поверхности культивирования. Показано, что они обладают рядом преимуществ перед используемыми в настоящее время термочувствительными субстратами поли-н-изопротилакриламида.

Основу биоматериалов составляют синтетический латекс СКФ-26 и водорастворимые биополимеры: альгинат натрия и метилцеллюлоза. Обнаружено, что пленки из альгината натрия имеют высокую адгезионную способность для фибробластов, а пленки из метилцеллюлозы – для эпителиальных клеток. Исследовано также влияние УФ-облучения и γ -облучения, традиционно применяемых для стерилизации пленок, на адгезию и рост культур клеток. Установлено двукратное увеличение темпов адгезии при обработке полимеров ультрафиолетом, и усиление адгезии и распластывания клеток при обработке пленок γ -лучами.

Разработана технология культивирования эпидермальных кератиноцитов на микроносителях – коллагеновых микросферах диаметром 150–300 микрон. Такой метод культивирования клеток может быть использован и для выращивания культур фибробластов, а также для проведения трансплантации культуры фибробластов и кератиноцитов одновременно. Трансплантация клеток на микроносителях осуществляется в коллагеновом геле, что позволяет доставлять клетки в различные полости организма, использовать их для закрытия трехмерных дефектов и повысить эффективность лечения.

Аллофибробласты могут быть трансплантированы на покрытие "Фоллидерм", представляющее собой прозрачную газопроницаемую полимерную пленку из полиэтилентерефталата (лавсана) с субмикронными порами, непроницаемыми для микроорганизмов. Для трансплантации культивированных аллофибробластов использовался пленочный носитель "Биокол" – рассасывающиеся, биодеградирующие губки на основе коллагена.

В последнее время уделяется внимание созданию *in vitro* сложных структур и композиций, включающих в свой состав не только клетки эпидермального и мезенхимального происхождения, но и элементы внеклеточного матрикса.

На раневую поверхность переносили моделирующий дерму "дермальный эквивалент" (ДЭ), на поверхности которого выращивали кератиноциты, получая таким образом "живой эквивалент кожи" (ЖЭК). Преимуществом ДЭ является то, что клетки в нем находятся в активном функциональном состоянии, близком к таковому в коже, и имеют многие фенотипические черты, свойственные нормальным фибробластам. В состав нормальной дермы помимо клеток и сети коллагеновых фибрилл входят и другие компоненты внеклеточного матрикса. Введение в гель добавочных компонентов межклеточного матрикса (например, гликозаминогликанов) приближает свойства геля к составу дермы *in vivo*, а нанесение на поверхность геля фибронектина и ламинина способствует формированию базальной пластинки. Основным компонентом ДЭ является коллаген – основной структурный фибриллярный белок соединительной ткани, обеспечивающий ее механическую прочность. Физиологический раствор коллагена (смесь коллагена с живыми клетками, с компонентами внеклеточного матрикса, с ростовыми факторами и другими биологически активными молекулами) можно транспортировать и переносить на рану. При этом гель хорошо моделирует рельеф поверхности раны. На поверхность такого геля можно пересаживать культуру кератиноцитов. Таким образом, формируется полноценная структура кожи. Эта технология была применена при лечении ожогов, трофических язв и косметических дефектов.

Другим подходом, распространенным в России, является культивирование и пересадка аллогенных фибробластов с последующей аутодермопластикой широкопетлистыми лоскутами кожи. Однако высокая стоимость и сложность технологии культивирования ограничивают возможность ее применения в клинической практике. Важным шагом на пути совершенствования такого метода явилось изменение технологии культивирования клеток. Реализация способа предусматривает использование в качестве подложки полимерной пленки (в частности, "Фолидерм"), на поверхности которой получают монослой клеток. Пересадка клеток осуществляется в положении клеток "головой вниз", а пленка оказывает защитную функцию. Аналогичным образом проводится ле-

чение с использованием культур аллогенных фибробластов.

Новым вариантом лечения поверхностных ран и ожогов является нанесение на раны жидкого раствора нативного коллагена, содержащего компоненты внеклеточного матрикса и живые клетки (фибробласты), с последующей трансплантацией культуры кератиноцитов.

Еще одним из перспективных направлений является использование на этапе выделения клеток из кожных лоскутов высокоактивного полиферментного комплекса "Поликоллагеназа-К", получаемого из панцирей гидробионтов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в работе обобщены основные сведения о перспективных полимерных композиционных материалах, применяемых в современной комбустиологии для лечения поверхностных ран и ожогов.

Ведутся разработки по созданию биodeградируемых полимерных матриксов на основе биополимера хитозана для решения задач тканевой скаффолд-инженерии, в частности, для создания протезов кожи для лечения поверхностных ран и ожогов.

Установлено, что хитозановые пленки обладают высокой сорбционной способностью к парам воды и водно-кислотных сред. Скорость поглощения паров сорбатов и величина степени набухания зависят от молекулярной массы, степени деацетилирования и влажности образцов, температуры внешней среды, толщины полимерной пленки и времени ее хранения в атмосферных условиях и др. Обнаружено также, что пленочные образцы хитозана обладают собственной бактерицидной активностью, сила которой во многом определяется величиной и знаком удельного оптического вращения, являющегося мерой оптической активности полисахарида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические и фундаментальные аспекты тканевой терапии. Теория и практика клеточных технологий: Матер. II Всеросс. симпозиума с международным участием. – Самара, 2004. – 317 с.
2. Коллагенопластика в медицине. – М.: Медицина, 1978. – 256 с.
3. Комбустиология на рубеже веков: Матер. Международ. конгресса. – М., 2000. – 283 с.